

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MANOEL PENACHIO GONÇALVES

**TEOR DE AÇÚCARES REDUTORES EM RAIZ DE SOJA E O COMPORTAMENTO  
DE *Phytophthora sojae***



PALOTINA

2017

MANOEL PENACHIO GONÇALVES

**TEOR DE AÇÚCARES REDUTORES EM RAIZ DE SOJA E O COMPORTAMENTO  
DE *Phytophthora sojae***

Trabalho de conclusão de curso apresentado  
ao curso de Agronomia da Universidade  
Federal do Paraná, Setor Palotina, como  
requisito parcial à obtenção do título de  
Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. Roberto Luis Portz

PALOTINA

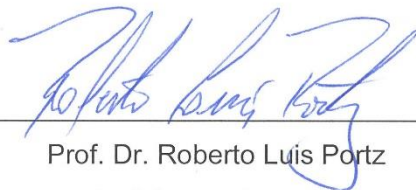
2017

## TERMO DE APROVAÇÃO

MANOEL PENACHIO GONÇALVES

TEOR DE AÇÚCARES REDUTORES EM RAIZ DE SOJA E O COMPORTAMENTO  
DE *Phytophthora sojae*

Trabalho de conclusão de curso aprovado como requisito parcial à obtenção do título de Engenheiro Agrônomo, Curso de Agronomia da Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, pela seguinte banca examinadora:



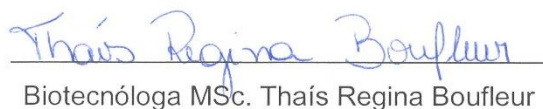
Prof. Dr. Roberto Luís Portz

Orientador – Departamento de Ciências Agronômicas – UFPR Setor Palotina



Profª. Drª. Vivian Carré Missio

Departamento de Ciências Agronômicas – UFPR Setor Palotina



Biotecnóloga MSc. Thaís Regina Boufleur

Departamento de Fitopatologia e Nematologia – ESALQ/USP

Palotina, 15 de dezembro 2017

*Em memória à Fernando Penachio Gonçalves, meu irmão e  
amigo, pelo incentivo e companheirismo.  
Aos meus pais, Manoel e Verônica, por todo amor, carinho e  
dedicação.*

**Dedico.**

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, pelo dom da vida e proteção, por me conceder a oportunidade de trilhar essa jornada.

Aos meus pais, Manoel e Verônica, minha fonte de inspiração, por me ensinarem valores que levarei para o resto da vida.

Ao meu irmão Fernando, que está junto à Deus, em quem me espelho, a quem eu dedico todas as minhas conquistas. Obrigado por me ensinar que a vida deve ser vivida intensamente.

A minha irmã Vanessa e meu cunhado Ed Carlo, por todo o apoio e por terem concebido filhos que encheram de alegria o nosso lar.

À todos familiares, que estão sempre torcendo pelo meu sucesso, especialmente minha tia Julia, por ser minha segunda mãe.

Aos meus amigos Jordi Souza, Fabiana Wundrak, Desiree Almeida, Sabrina Holz, Kamilla Carmo, Renan Cagol, André Waltrich, Andressa Schirmer e Andressa Pomini, por cada momento compartilhado e pelo apoio nos momentos difíceis dessa caminhada.

Aos meus amigos do intercâmbio, Alisson, Emanuelle, Maíra e Thamy, com quem vivenciei um dos melhores momentos da minha vida.

À sexta turma de agronomia, especialmente ao Fernando, Xuxa, Zadinello, Samuka, Carcaça, Wehrmeister, Acco, Tissa, Elo, Carol, Luana e Kaina, por todos os momentos compartilhados nesses quatro anos e meio de curso.

Ao meu orientador, Professor Roberto Luis Portz, pelos anos de trabalho em conjunto, pelos ensinamentos e, acima de tudo, pela amizade.

À Professora Vivian Carré Missio, pessoa e profissional que admiro muito. Obrigado pela amizade, pelos ensinamentos e o carinho de sempre.

À Professora Eliane Hermes, por contribuir significativamente em minha formação pessoal e profissional.

Ao Professor Fabiano Bisinella, pela colaboração com a metodologia de determinação do teor de açúcares redutores.

Ao Departamento de Ciências Agronômicas, assim como todo corpo docente do curso de agronomia, pela construção de meu caráter e perfil profissional. Especialmente, aos Professores Laércio Pivetta, Alessandro Sato e Luciana Grange.

À Thais Regina Bouffleur, por muitas vezes sanar minhas dúvidas de fitopatologia.

Ao Centro Acadêmico de Agronomia Palotinese, grupo com o qual tive o prazer de trabalhar e aprender.

À Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina, por conceder o espaço físico e intelectual para a realização do curso de agronomia.

Ao Labiogen, por conceder espaço no freezer para o armazenamento de minhas amostras, em especial a Adeline e a Hemilly.

À Embrapa Trigo, especialmente a Pesquisadora Leila Maria Costamilan, pelo fornecimento do isolado de *Phytophthora sojae*.

À PRAE – Pró-reitoria de Assuntos Estudantis, pelo apoio financeiro durante a graduação.

Ao Programa Mobilidade Acadêmica UFPR, que me proporcionou uma das melhores experiências da minha vida.

Agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram no meu trabalho e na minha formação acadêmica.

*“Eis o meu segredo. É muito simples: só se vê bem com o coração. O essencial é  
invisível aos olhos.”*

*Antoine de Saint-Exupéry*

## RESUMO

Em vários patossistemas, o teor de açúcares no tecido vegetal tem papel fundamental na definição da suscetibilidade da planta ao patógeno. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a relação entre o teor de açúcares redutores em raiz de soja e o comportamento de *Phytophthora sojae*. Para tanto, sementes da cultivar suscetível M6210 foram semeadas em bandejas contendo como substrato areia esterilizada e mantidas em casa de vegetação. Após o desenvolvimento das folhas primárias, as plantas foram retiradas da bandeja com areia, tiveram suas raízes lavadas em água destilada e foram transferidas para tubos Falcon de 50 mL com água destilada esterilizada (ADE). O experimento foi conduzido com um total de 155 plantas. Para avaliações anteriores à inoculação (quantificação de açúcares redutores), foram utilizadas 15 plantas, sendo cinco amostradas antes e 10 após o período de incubação. Para o procedimento de inoculação, foram utilizadas 100 plantas, sendo que 50 plantas foram, previamente, incubadas em BOD a 25 °C em fotoperíodo de 12 horas, e as demais foram incubadas no escuro, durante 80 h. Após esse período, das 50 plantas que foram incubadas em fotoperíodo, 25 plantas foram inoculadas com *P. sojae*, e as demais permaneceram sem inóculo (testemunha), ambos foram mantidos em ADE. O mesmo procedimento foi realizado com as plantas anteriormente incubadas no escuro. A inoculação foi realizada através do teste do palito, inserindo-se uma ponta de palito colonizada por *P. sojae* aproximadamente 1 cm abaixo do início da raiz principal da planta. Após a inoculação, os tubos Falcon foram vedados com EVA e as plantas foram incubadas em BOD a 25 °C em fotoperíodo de 12 h. Foram quantificados diariamente, o consumo de água, o Índice de Clorofila Falker (ICF), os sintomas da doença e o teor de açúcares redutores na raiz da planta. Resultados indicam que altas concentrações de açúcares favorecem o surgimento antecipado de sintomas causados por *P. sojae*, enquanto baixas concentrações prorrogam esse efeito. Plantas inoculadas com *P. sojae* apresentaram redução dos parâmetros ecofisiológicos avaliados. Os resultados evidenciam que o teor de açúcares redutores na raiz influenciam o crescimento do patógeno.

Palavras-chave: interação patógeno-hospedeiro; hemibiotrófico; *Glycine max*.



## ABSTRACT

In several pathosystems, sugar content of plant tissue plays a fundamental role to plant susceptibility. In this way, aim this work was to evaluate correlation of reducing sugars content in soybean root and the behavior of *Phytophthora sojae*. For this purpose, susceptible soybean (M6210) were seeded in trays containing sterile sand and maintained in greenhouse. After development of primary leaves, plants were removed from sand and had their roots washed, after them plants were transferred to 50 mL Falcon tubes with sterile distilled water. The experiment were conducted with a total of 155 plants. For evaluations previous to inoculation (quantification of reducing sugars), 15 plants were used, five of which were sampled before and 10 after the incubation period. To perform the inoculation assay 100 plants were used, 50 of them were previously incubated in BOD at 25 °C in a 12-hour photoperiod, and the others were incubated in the dark for 80 h. After 25 plants that were submitted to photoperiod were inoculated with *P. sojae*, remaining plants that were not inoculated (control). The same were performed with plants previously incubated in the dark. The *P. sojae* inoculation were performed through the stick test, inserting a colonized toothpick approximately 1 cm below the beginning of main root. After inoculation, Falcon tubes were sealed and the plants maintained in 12 h photoperiod at 25 °C. Water uptake, Falker Chlorophyll Index (ICF), symptoms of the disease and the reducing sugar content in the plant root were quantified daily. Results shows that high concentrations of sugars propitiate early outbreak of symptoms caused by *P. sojae*, while low concentrations delayed this effect. Inoculated plants showed reduction of ecophysiological parameters. Results showed that root reducing sugars content affects directly the pathogen growth.

Key-words: pathogen-host interaction; hemibiotrophic; *Glycine max*.

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** PREPARO DO INÓCULO DE *Phytophthora sojae* PARA INOCULAÇÃO PELO TESTE DO PALITO. (A) PLACAS DE PETRI COM PONTAS DE PALITO MONTADAS EM BASE DE PAPEL FILTRO; (B) PONTA DO PALITO COLONIZADA POR *Phytophthora sojae*, OBSERVADO EM LUPA COM AUMENTO DE 4X; (C) COLÔNIA DE *Phytophthora sojae* EM PLACA DE PALITO DE DENTE, 10 DIAS APÓS REPICAGEM.....18
- FIGURA 2.** PLANTAS DE SOJA EM ESTÁDIO VC (COTILÉDONE) CULTIVADAS EM BANDEJA COM AREIA ESTERILIZADA, MANTIDAS EM CASA DE VEGETAÇÃO SOB TEMPERATURA DE  $\pm 25$  °C E IRRIGAÇÃO CONTROLADA....19
- FIGURA 3.** INOCULAÇÃO COM PALITO DE DENTE COLONIZADO POR *Phytophthora sojae* EM PLANTAS DE SOJA EM ESTÁDIO V1, INSERÇÃO APROXIMADAMENTE 1 cm ABAIXO DO INÍCIO DA RAIZ PRINCIPAL.....20
- FIGURA 4.** PLANTAS DE SOJA EM TUBO FALCON DE 50 ML COM ADE, MANTIDAS EM BOD A 25 °C SOB FOTOPERÍODO DE 12 HORAS, APÓS INOCULAÇÃO COM *Phytophthora sojae*. ....21
- FIGURA 5.** ESCALA VISUAL DE AVALIAÇÃO DE SINTOMAS CAUSADOS POR *Phytophthora sojae* EM PLANTAS DE SOJA. (A) NOTA 1 – PLANTA ASSINTOMÁTICA; (B) NOTA 2 – PLANTA COM LEVE MURCHA; (C) NOTA 3 – PLANTA COM INTENSA MURCHA; (D) NOTA 4 – PLANTA COM INTENSA MURCHA E CLOROSE DAS FOLHAS; (E) NOTA 5 – PLANTA MORTA.....22
- FIGURA 6.** CURVA PADRÃO DE GLICOSE NAS CONCENTRAÇÕES DE 0,1 A 1,0 g L<sup>-1</sup>, COM A REGRESSÃO LINEAR E O COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO DA GLICOSE EM FUNÇÃO DA ABSORBÂNCIA MEDIDA NO COMPRIMENTO DE ONDA DE 540 nm. ....25
- FIGURA 7.** INCIDÊNCIA DE PLANTAS DE SOJA COM SINTOMAS DE PODRIDÃO DE *Phytophthora sojae* EM DIFERENTES PERÍODOS APÓS INOCULAÇÃO. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE SCOTT-KNOTT, A 5% DE PROBABILIDADE. NS (NÃO SIGNIFICATIVO). 26

**FIGURA 8.** CONSUMO DE ÁGUA mL dia<sup>-1</sup> EM PLANTAS DE SOJA MANTIDAS EM FOTOPERÍODO DE 12 HORAS E INOCULADAS COM *Phytophthora sojae* (INOCULADAS/FOTOPERÍODO), MANTIDAS EM FOTOPERÍODO DE 12 HORAS E NÃO INOCULADAS (CONTROLE/FOTOPERÍODO) E PLANTAS MANTIDAS EM ESCURO E INOCULADAS COM *Phytophthora sojae* (INOCULADAS/ESCURO), PLANTAS MANTIDAS EM ESCURO E NÃO INOCULADAS (CONTROLE/ESCURO). MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE SCOTT-KNOTT, A 5% DE PROBABILIDADE. 27

**FIGURA 9.** ÍNDICE DE CLOROFILA FALKER (ICF) EM PLANTAS DE SOJA MANTIDAS EM FOTOPERÍODO DE 12 HORAS E INOCULADAS COM *Phytophthora sojae* (INOCULADAS/FOTOPERÍODO), MANTIDAS EM FOTOPERÍODO DE 12 HORAS E NÃO INOCULADAS (CONTROLE/FOTOPERÍODO) E PLANTAS MANTIDAS EM ESCURO E INOCULADAS COM *Phytophthora sojae* (INOCULADAS/ESCURO), PLANTAS MANTIDAS EM ESCURO E NÃO INOCULADAS (CONTROLE/ESCURO). MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE SCOTT-KNOTT, A 5% DE PROBABILIDADE.....28

**FIGURA 10.** CONCENTRAÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES EM RAÍZES DE PLANTAS DE SOJA MANTIDAS EM FOTOPERÍODO DE 12 HORAS E INOCULADAS COM *Phytophthora sojae* (INOCULADAS/FOTOPERÍODO), MANTIDAS EM FOTOPERÍODO DE 12 HORAS E NÃO INOCULADAS (CONTROLE/FOTOPERÍODO) E PLANTAS MANTIDAS EM ESCURO E INOCULADAS COM *Phytophthora sojae* (INOCULADAS/ESCURO), PLANTAS MANTIDAS EM ESCURO E NÃO INOCULADAS (CONTROLE/ESCURO). MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE SCOTT-KNOTT, A 5% DE PROBABILIDADE. NS (NÃO SIGNIFICATIVO). .....29

**FIGURA 11.** CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES EM RAÍZES DE PLANTAS DE SOJA E ÍNDICE DE CLOROFILA FALKER (ICF). (A) PLANTAS MANTIDAS EM FOTOPERÍODO DE 12 HORAS E INOCULADAS COM *Phytophthora sojae*; (B) PLANTAS MANTIDAS NO ESCURO E INOCULADAS COM *Phytophthora sojae*.....32

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| <b>1 INTRODUÇÃO REFERENCIADA</b> .....            | 13 |
| <b>2 OBJETIVOS</b> .....                          | 16 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL .....                          | 16 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....                   | 16 |
| <b>3 METODOLOGIA</b> .....                        | 17 |
| 3.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO.....       | 17 |
| 3.2 OBTENÇÃO E PREPARO DO INÓCULO.....            | 17 |
| 3.3 OBTENÇÃO DE PLANTAS E INOCULAÇÃO .....        | 18 |
| 3.4 QUANTIFICAÇÃO DO CONSUMO DE ÁGUA.....         | 21 |
| 3.5 QUANTIFICAÇÃO DA CLOROFILA.....               | 21 |
| 3.6 SINTOMATOLOGIA .....                          | 22 |
| 3.7 QUANTIFICAÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES.....      | 23 |
| 3.7.1 Amostragem da raiz .....                    | 23 |
| 3.7.2 Extração de açúcares do tecido vegetal..... | 24 |
| 3.7.3 Teor de açúcares redutores .....            | 24 |
| 3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....                     | 25 |
| <b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....             | 26 |
| <b>5 CONCLUSÃO</b> .....                          | 34 |
| <b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....         | 35 |

## 1 INTRODUÇÃO REFERENCIADA

Apesar de não ser considerada um alimento básico, assim como os cereais (trigo, arroz, milho e aveia), a soja (*Glycine max* [L.] Merrill) é uma das culturas mais importantes do mundo, especialmente como fonte de proteína e óleo vegetal (BEZERRA et al., 2015). O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja, atingindo 111,6 milhões de toneladas na safra 2016/2017, atrás apenas dos Estados Unidos (USDA, 2017). Um levantamento da Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB (2017), estima um crescimento de 15,4% na produção nacional de soja, em relação à safra anterior.

Um dos principais fatores que limitam a produtividade da cultura da soja são as doenças. As perdas anuais de produção dessa cultura variam entre 15 e 20%, porém algumas doenças podem causar até 100% de danos (EMBRAPA, 2013), dentre essas a podridão radicular de *Phytophthora*, causada por *Phytophthora sojae* (COSTAMILAN; BERTAGNOLLI; MORAES, 2007).

O gênero *Phytophthora*, com inúmeras espécies descritas, pode levar à morte uma vasta gama de hospedeiros em todas as regiões do mundo. Esses patógenos pertencem ao reino Chromista, dentro da classe Oomycetes, ordem Peronosporales e família Peronosporaceae (MASSOLA; KRUGNER, 2011).

A podridão radicular de *Phytophthora*, foi descrita no Rio Grande do Sul em 1995, e houve relatos de danos na safra 2005/2006 em Santa Catarina, Paraná, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Minas Gerais, Goiás e Tocantins. Essa doença pode ser observada em qualquer estágio da soja. As plantas jovens morrem rapidamente pois são mais suscetíveis. Já em plantas adultas, os sintomas dependem da suscetibilidade da cultivar. O patógeno pode causar podridão de sementes, podridão radicular, tombamento de plântulas e morte de plantas adultas (HENNING et al., 2010; GODOY et al., 2016).

Os patógenos podem ser classificados em três grupos, de acordo com as relações nutricionais estabelecidas com o hospedeiro: biotróficos, nos quais as fontes de nutrientes são tecidos vivos de seu hospedeiro; necrotróficos, em que as fontes de nutrientes são os tecidos mortos; hemibiotróficos, que na infecção atuam como biotróficos, mas colonizam o hospedeiro como necrotróficos (LUTTRELL, 1974; PARBERY, 1996).

A exemplo de patógeno hemibiotrófico, tem-se a espécie *Phytophthora sojae* (STOSSEL; LAZAROVITS; WARD, 1980; ENKERLI; HAHN; MIMS, 1997), assim como outras espécies desse gênero, *P. infestans* (JONES; GRAHAM; WARD, 1975; WHISSON et al., 2016), *P. cambivora* (CASARES; GONZÁLES; TAMÉS, 1994), *P. capsici* (JUPE et al., 2013) e *P. palmivora* (SARRIA et al., 2016). Esses patógenos infectam a planta como biotróficos, utilizando de uma estrutura especializada semelhante ao haustório, chamada vesícula, para extrair nutrientes da célula hospedeira. Após o estabelecimento das relações parasitárias estáveis, o patógeno coloniza de forma necrotrófica as células adjacentes à infectada. Nesse momento, ocorre a lesão das células e posterior morte do tecido, através da produção de enzimas e toxinas pelo patógeno (AMORIM; PASCHOLATI, 2011).

A infecção das plantas por patógenos ocasiona alterações no metabolismo primário, devido as respostas de defesa do hospedeiro, podendo assim, levar ao incremento ou ao decréscimo na síntese de açúcares. No entanto, mudanças nos teores de açúcares no tecido vegetal em resposta ao ataque do patógeno, depende do tipo de parasitismo (BERGER et al., 2004). Nesse sentido, as doenças fúngicas podem ocorrer tanto sob condições de alta como de baixa disponibilidade de açúcares no tecido vegetal.

De forma geral, a função dos carboidratos e de seu metabolismo está centrada basicamente em aspectos energéticos. Entretanto, estudos têm evidenciado uma importante contribuição dos carboidratos no controle da expressão de genes, controle circadiano, regulação das relações fonte-dreno, controle do ciclo celular e nas interações planta-patógeno (LYTOVCHENKO et al., 2007).

Os açúcares são fundamentais para a síntese de vários compostos de defesa, como compostos fenólicos, lignina e algumas fitoalexinas. Durante a interação patógeno-hospedeiro, os dois organismos competem pelos mesmos nutrientes e a importância de se controlar a disponibilidade de carboidratos é crucial para a defesa do hospedeiro, que requer um investimento em gasto energético (GREKSAK et al., 1972; SUTTON et al., 1999).

O conceito de doenças associadas com baixos ("*low-sugar diseases*") e com altos ("*high-sugar diseases*") teores de açúcares na planta foi sugerido por Horsfall e Dimond (1957). Por depender de vários fatores, a suscetibilidade ou a resistência das plantas a doenças, é um assunto de certa forma complexo. Em vários patossistemas, o teor de açúcares na planta tem papel fundamental na definição da

suscetibilidade ou resistência. O tipo de parasitismo está diretamente relacionado com a disponibilidade de açúcar na planta e com o tipo de açúcar predominante. Geralmente, as interações biotróficas apresentam uma associação positiva entre a severidade da doença e os altos teores de açúcares na planta. Já nas interações necrotróficas, essa associação é negativa, ou seja, a maior severidade da doença ocorre em condições de baixos teores de açúcares na planta. Entretanto, nas interações hemibiotróficas, predomina, no início da infecção, a condição de alto teor de açúcar e, depois a condição de baixo teor de açúcar (VAN DER PLANK, 1984; SILVA et al., 2008).

A relação entre o teor de açúcares nos tecidos vegetais e a infecção por patógenos têm sido estudada em vários patossistemas de plantas com fungos, bactérias, vírus, fitoplasmas e nematoides (SILVA et al., 2008). No entanto, não há trabalhos com o patossistema *P. sojae* – *Glycine max*.

Diante do exposto, o presente estudo tem como hipótese, que o teor de açúcares redutores no tecido da planta pode influenciar o comportamento do patógeno e, conseqüentemente, o surgimento de sintomas durante a interação *P. sojae* e plantas de soja.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a relação entre o teor de açúcares redutores em raiz de soja e o comportamento de *Phytophthora sojae*.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar a relação entre o progresso da doença podridão de *Phytophthora* e o teor de açúcares redutores em raiz de soja;
- b) Avaliar os parâmetros ecofisiológicos na interação entre *P. sojae* e plantas de soja;
- c) Avaliar o efeito do teor de açúcares redutores na infecção de um patógeno hemibiotrófico;
- d) Contribuir no entendimento das relações patógeno-hospedeiro.



### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO

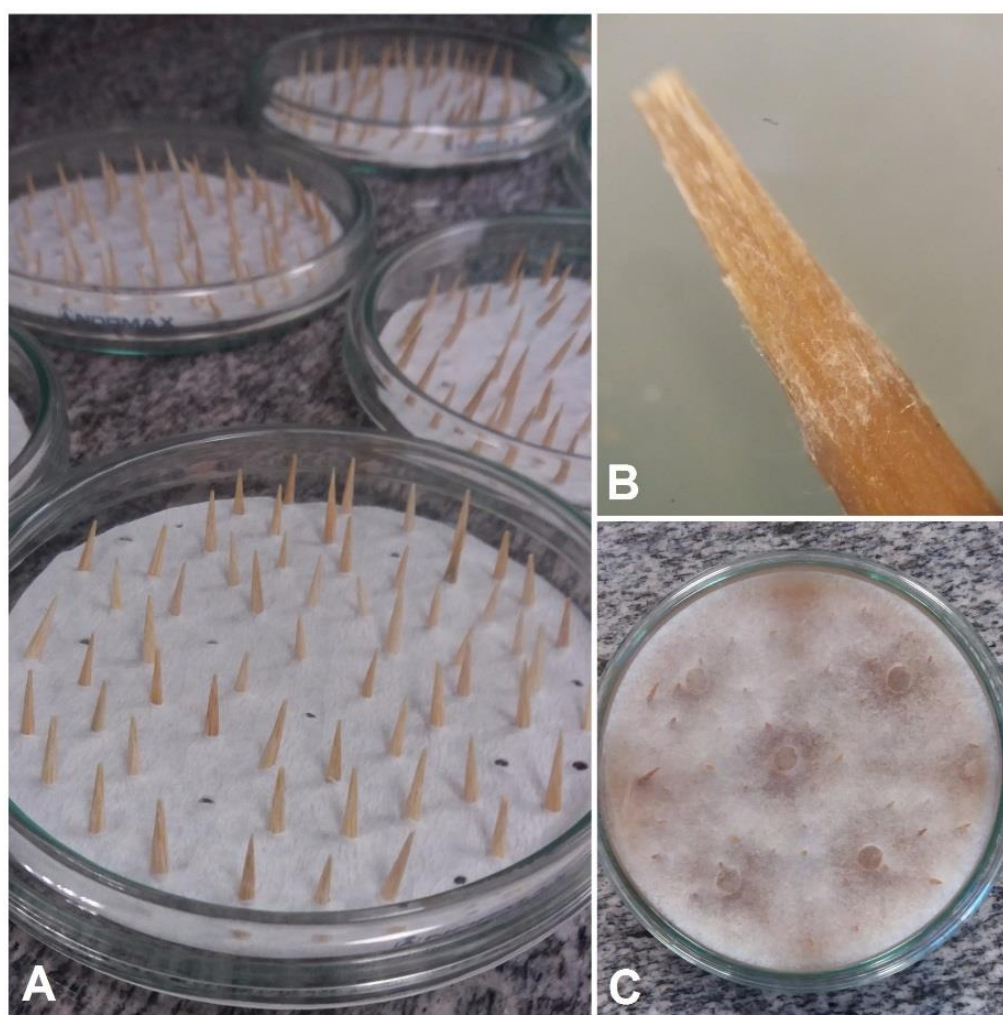
O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia e no Laboratório de Fisiologia e Nutrição Vegetal, do Departamento de Ciências Agronômicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Setor de Palotina. A quantificação do teor de açúcares redutores foi realizada no Laboratório de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal e no Laboratório de Micologia e Plantas Medicinais.

#### 3.2 OBTENÇÃO E PREPARO DO INÓCULO

O isolado Ps36.1 de *P. sojae* utilizado na avaliação da interação patógeno-hospedeiro é proveniente da Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS.

Para o preparo do inóculo, foram montadas placas com palito de dente. Para tanto, recortou-se discos de papel filtro com diâmetro menor que o fundo da placa de petri. O papel foi perfurado com auxílio de uma agulha histológica, posicionando uma ponta de palito de dente (1 cm) em cada perfuração, fazendo com que este atravessasse o papel. Em seguida, colocou-se o disco de papel, com as pontas fixadas voltadas para cima, no fundo da placa de petri. O conjunto foi esterilizado em autoclave por 20 min a 120 °C. Após esse procedimento, verteu-se meio de cultura V8 (100 g de suco V8, 0,60 g de CaCO<sub>3</sub>, 20 g de ágar e 900 mL de água destilada) em cada placa com palitos, de forma que cerca de 2 mm das pontas permanecessem para fora da superfície. Após a solidificação do meio, foram repicados cinco discos de micélio por placa, de colônias com 12 dias, com o micélio voltado para baixo. As placas foram mantidas em BOD a 25 °C por 10 dias, até a colonização da ponta do palito (FIGURA 1).

**FIGURA 1.** PREPARO DO INÓCULO DE *Phytophthora sojae* PARA INOCULAÇÃO PELO TESTE DO PALITO. (A) PLACAS DE PETRI COM PONTAS DE PALITO MONTADAS EM BASE DE PAPEL FILTRO; (B) PONTA DO PALITO COLONIZADA POR *Phytophthora sojae*, OBSERVADO EM LUPA COM AUMENTO DE 4X; (C) COLÔNIA DE *Phytophthora sojae* EM PLACA DE PALITO DE DENTE, 10 DIAS APÓS REPICAGEM.



FONTE: O AUTOR (2017).

### 3.3 OBTENÇÃO DE PLANTAS E INOCULAÇÃO

Para obtenção de plantas de soja, sementes da cultivar suscetível Monsoy 6210 IPRO, previamente desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio a 1% por 30 segundos, foram semeadas em bandejas contendo como substrato areia esterilizada e mantidas em casa de vegetação sob temperatura ambiente ( $\pm 25$  °C) com irrigação diária (FIGURA 2).

**FIGURA 2.** PLANTAS DE SOJA EM ESTÁDIO VC (COTILÉDONE) CULTIVADAS EM BANDEJA COM AREIA ESTERILIZADA, MANTIDAS EM CASA DE VEGETAÇÃO SOB TEMPERATURA DE  $\pm 25$  °C E IRRIGAÇÃO CONTROLADA.



FONTE: O AUTOR (2017).

Após o desenvolvimento das folhas primárias (estádio V1), as plantas foram retiradas da bandeja com areia e tiveram suas raízes lavadas em água destilada. Na sequência, as plantas foram transferidas para tubos Falcon de 50 mL com água destilada esterilizada (ADE).

O experimento foi conduzido com um total de 115 plantas. Para avaliações anteriores à inoculação (teste preliminar de quantificação de açúcares redutores), foram utilizadas 15 plantas.

Para o procedimento de inoculação, foram utilizadas 100 plantas, sendo que 50 plantas foram, previamente, mantidas em BOD a 25 °C em fotoperíodo de 12 h, durante 80 h, e as demais permaneceram no escuro no mesmo período, com a finalidade de reduzir o teor de açúcares nessas plantas.

Após esse período, das 50 plantas que foram mantidas em fotoperíodo, 25 plantas foram inoculadas com *P. sojae*, e as outras 25 plantas permaneceram sem inóculo, servindo como controle, ambos foram mantidos em ADE. O mesmo procedimento foi realizado com as plantas anteriormente incubadas no escuro. A inoculação foi realizada através do teste do palito, metodologia adaptada de Keeling

(1982), inserindo-se uma ponta de palito colonizada por *P. sojae* aproximadamente 1 cm abaixo do início da raiz principal da planta (FIGURA 3). Na testemunha foi introduzido a ponta do palito esterilizado.

**FIGURA 3.** INOCULAÇÃO COM PALITO DE DENTE COLONIZADO POR *Phytophthora sojae* EM PLANTAS DE SOJA EM ESTÁDIO V1, INSERÇÃO APROXIMADAMENTE 1 cm ABAIXO DO INÍCIO DA RAIZ PRINCIPAL.



FONTE: O AUTOR (2017).

Após a inoculação, os tubos Falcon foram vedados com EVA, objetivando-se quantificar o consumo de água pela planta. Posteriormente, as plantas foram incubadas em BOD a 25 °C em fotoperíodo de 12 horas (FIGURA 4).



**FIGURA 4.** PLANTAS DE SOJA EM TUBO FALCON DE 50 ML COM ADE, MANTIDAS EM BOD A 25 °C SOB FOTOPERÍODO DE 12 HORAS, APÓS INOCULAÇÃO COM *Phytophthora sojae*.



FONTE: O AUTOR (2017).

### 3.4 QUANTIFICAÇÃO DO CONSUMO DE ÁGUA

O consumo de água foi aferido diariamente através de pesagens diretas do conjunto (tubo Falcon + planta), com o auxílio de balança semi-analítica. O consumo total de água diário se deu por meio da diferença de peso no período de 24 horas, de acordo com a metodologia de Fleischmann et al. (2005).

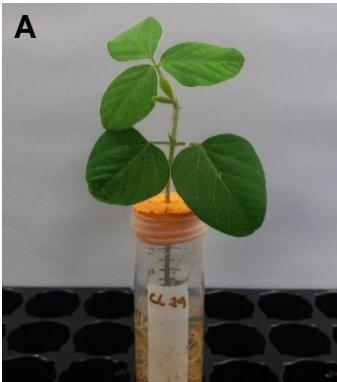
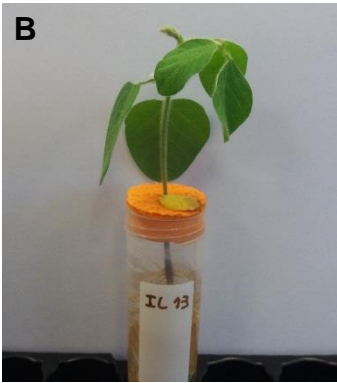
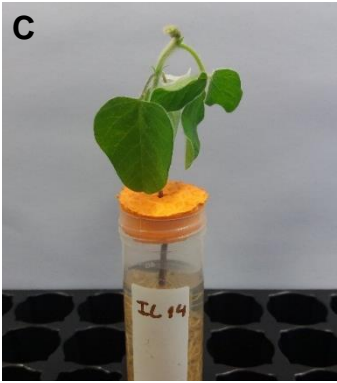
### 3.5 QUANTIFICAÇÃO DA CLOROFILA

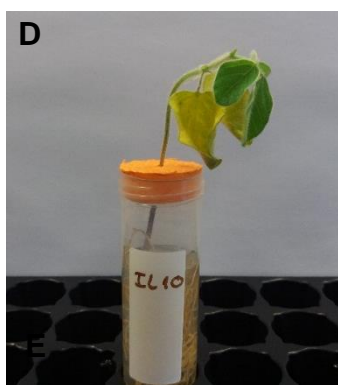
O Índice de Clorofila Falker (ICF) foi quantificado através de medições diárias com clorofilômetro clorofiLOG CFL1030, da marca FALKER. As medições foram feitas em uma das folhas primárias da planta, previamente marcada.

### 3.6 SINTOMATOLOGIA

O desenvolvimento de sintomas em folhas (murcha, clorose e necrose) foi acompanhado diariamente através de uma escala visual de sintomas (FIGURA 5).

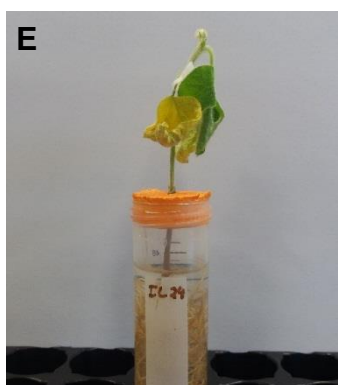
**FIGURA 5.** ESCALA VISUAL DE AVALIAÇÃO DE SINTOMAS CAUSADOS POR *Phytophthora sojae* EM PLANTAS DE SOJA. (A) NOTA 1 – PLANTA ASSINTOMÁTICA; (B) NOTA 2 – PLANTA COM EPINASTIA; (C) NOTA 3 – PLANTA COM INTENSA MURCHA; (D) NOTA 4 – PLANTA COM INTENSA MURCHA E CLOROSE; (E) NOTA 5 – PLANTA MORTA.

| Escala visual   | Descrição                 | Nota |
|---|---------------------------|------|
| <b>A</b><br>  | Planta assintomática      | 1    |
| <b>B</b><br> | Planta com leve murcha    | 2    |
| <b>C</b><br> | Planta com intensa murcha | 3    |



Planta com intensa murcha e clorose das folhas

4



Planta morta

5

FONTE: O AUTOR (2017).

### 3.7 QUANTIFICAÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES

#### 3.7.1 Amostragem da raiz

A amostragem da raiz de plantas de soja foi realizada em várias etapas durante a condução do experimento, buscando avaliar o comportamento dos açúcares redutores durante a progressão da doença. A primeira coleta ocorreu no tempo zero. A segunda amostragem foi feita após as plantas serem submetidas a 80 h de escuro e no fotoperíodo de 12 h. Após a inoculação, foram realizadas coletas a cada 24 h durante cinco dias, sendo amostradas cinco repetições por tratamento. As raízes foram cortadas, pesadas e armazenadas a -80 °C até o procedimento de extração.

### 3.7.2 Extração de açúcares do tecido vegetal

As amostras previamente armazenadas a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  foram maceradas em nitrogênio líquido, uma alíquota de 0,400 a 0,600 g do macerado foi transferida para tubos eppendorf de 2,0 mL. Na sequência, adicionou-se 1,0 mL de água destilada ( $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), e após agitação no vortex, estas foram aquecidas em banho maria a  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 30 min. Durante o aquecimento as amostras foram homogeneizadas por inversão a cada 10 min. Em seguida, as amostras foram submetidas a centrifugação a 12500 rpm por 10 min a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Após a centrifugação, retirou-se 0,3 mL do sobrenadante, para posterior determinação do conteúdo de açúcares redutores.

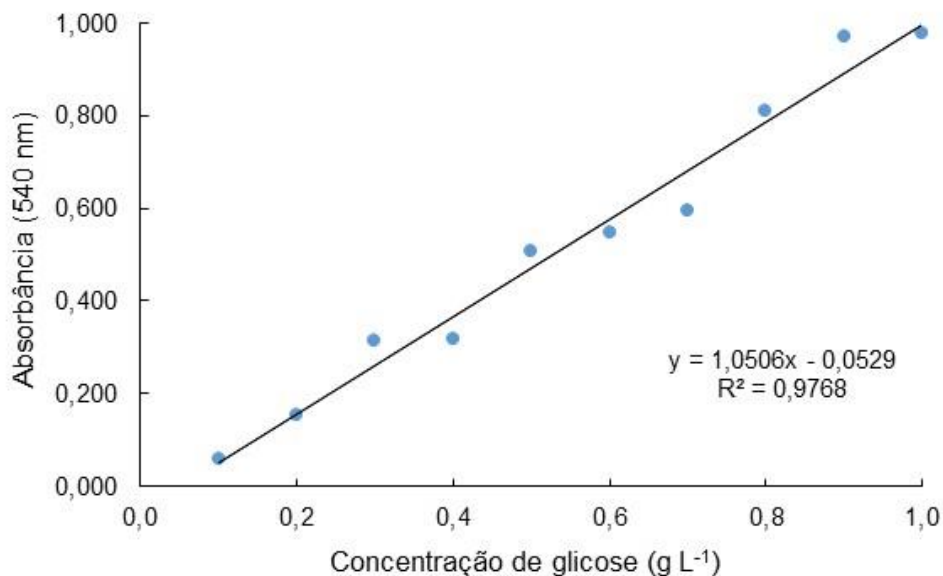
### 3.7.3 Teor de açúcares redutores

O método utilizado para determinação da concentração de açúcares redutores foi adaptado de Miller (1959). Para tanto, em tubo de ensaio de x mL adicionou-se 0,3 mL do extrato obtido no item 3.7.2 e 0,2 mL do reagente DNS, em seguida, aqueceu-se a  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 5 min. Após, os tubos de ensaio foram colocados em banho de gelo e diluiu-se os ensaios com 1,5 mL de água destilada. O branco foi preparado pela adição de 0,3 mL de água destilada substituindo o extrato. A amostra teve absorbância medida em espectrofotômetro no comprimento de onda de 540 nm.

Uma curva padrão de glicose, nas concentrações de 0,1 a  $1,0\text{ g L}^{-1}$ , foi construída nas mesmas condições da amostra, gerando um modelo de regressão linear e o coeficiente de determinação da glicose em função da absorbância medida (FIGURA 6).



**FIGURA 6.** CURVA PADRÃO DE GLICOSE NAS CONCENTRAÇÕES DE 0,1 A 1,0 g L<sup>-1</sup>, COM A REGRESSÃO LINEAR E O COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO DA GLICOSE EM FUNÇÃO DA ABSORBÂNCIA MEDIDA NO COMPRIMENTO DE ONDA DE 540 nm.



FONTE: O AUTOR (2017).

O reagente DNS foi preparado obedecendo a seguinte ordem: 10,6 g de ácido 3,5-dinitrosalicílico, 19,8 g de NaOH, 1416 mL de água destilada. Dissolveu-se em aquecimento brando 7,6 mL de fenol (fundido a 50°C) e 8,3 gramas de metabissulfito de sódio. Em seguida, adicionou-se o fenol e o metabissulfito de sódio à solução de DNS, NaOH e água destilada.

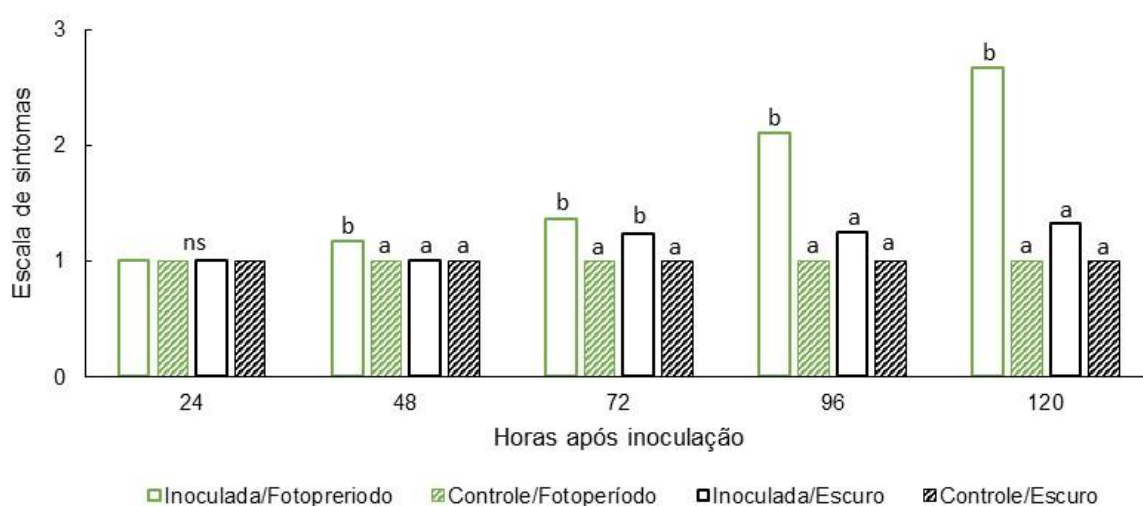
### 3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos nos diferentes ensaios experimentais foram avaliados estatisticamente a partir do programa computacional Sisvar (DEX/UFLA), através do teste Scott-Knott a 5% de probabilidade (FERREIRA, 2011).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o objetivo de estabelecer uma relação entre o teor de açúcares na planta e o surgimento de sintomas, plantas de soja expostas a um fotoperíodo de 12 h e plantas privadas de fotoperíodo durante 80 h, apresentaram sintomas em tempos distintos. A Figura 7 ilustra a incidência de sintomas de murcha nas plantas em função da escala visual de sintomas.

**FIGURA 7.** INCIDÊNCIA DE PLANTAS DE SOJA COM SINTOMAS DE PODRIDÃO DE *Phytophthora sojae* EM DIFERENTES PERÍODOS APÓS INOCULAÇÃO. MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE SCOTT-KNOTT, A 5% DE PROBABILIDADE. NS (NÃO SIGNIFICATIVO).

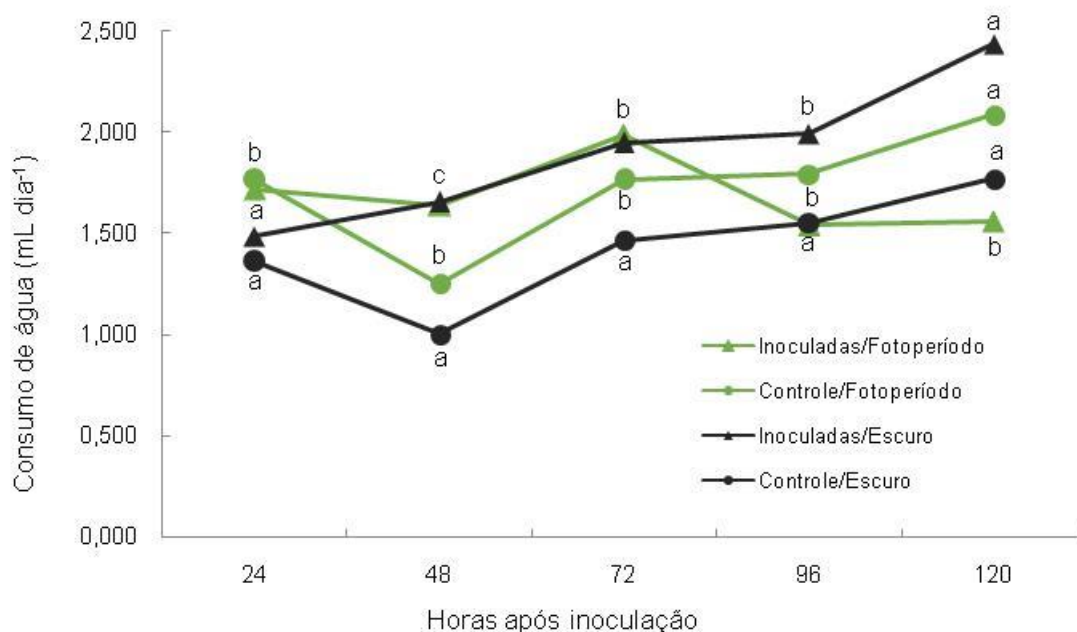


FONTE: O AUTOR (2017).

Conforme a Figura 7, os primeiros sintomas de murcha causados por *P. sojae* foram observados 48 h após inoculação, em plantas anteriormente mantidas em fotoperíodo de 12 h. Ficando evidente que a incidência de sintomas de murcha foi maior em plantas que não sofreram privação de fotoperíodo nas primeiras 80 h antes da inoculação.

Na Figura 8 são observadas as médias de consumo de água em plantas de soja mantidas em fotoperíodo de 12 horas e inoculadas com *P. sojae*, mantidas em fotoperíodo de 12 horas sem inoculação, plantas mantidas em escuro e inoculadas e plantas mantidas em escuro sem inoculação.

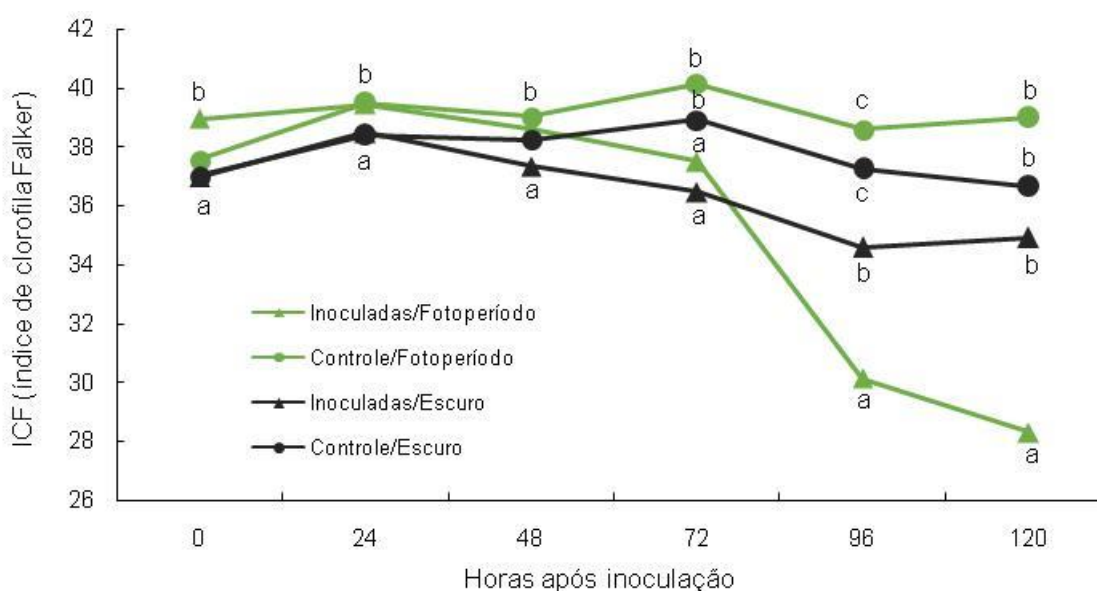
**FIGURA 8.** CONSUMO DE ÁGUA  $\text{mL dia}^{-1}$  EM PLANTAS DE SOJA MANTIDAS EM FOTOPERÍODO DE 12 HORAS E INOCULADAS COM *Phytophthora sojae* (INOCULADAS/FOTOPERÍODO), MANTIDAS EM FOTOPERÍODO DE 12 HORAS E NÃO INOCULADAS (CONTROLE/FOTOPERÍODO) E PLANTAS MANTIDAS EM ESCURO E INOCULADAS COM *Phytophthora sojae* (INOCULADAS/ESCURO), PLANTAS MANTIDAS EM ESCURO E NÃO INOCULADAS (CONTROLE/ESCURO). MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE SCOTT-KNOTT, A 5% DE PROBABILIDADE.



FONTE: O AUTOR (2017).

A partir das médias de consumo de água apresentadas na Figura 8, observa-se que as plantas inoculadas que anteriormente foram expostas ao fotoperíodo reduziram o consumo de água 96 h após inoculação. Este decréscimo no consumo de água coincide com o período em que houve o maior número de plantas com sintomas de murcha, clorose e necrose das folhas. Ficando evidente esta constatação 120 h após inoculação. O mesmo comportamento foi observado para o Índice de Clorofila Falker (ICF), apresentando uma maior redução entre 96 e 120 h após inoculação (FIGURA 9).

**FIGURA 9.** ÍNDICE DE CLOROFILA FALKER (ICF) EM PLANTAS DE SOJA MANTIDAS EM FOTOPERÍODO DE 12 HORAS E INOCULADAS COM *Phytophthora sojae* (INOCULADAS/FOTOPERÍODO), MANTIDAS EM FOTOPERÍODO DE 12 HORAS E NÃO INOCULADAS (CONTROLE/FOTOPERÍODO) E PLANTAS MANTIDAS EM ESCURO E INOCULADAS COM *Phytophthora sojae* (INOCULADAS/ESCURO), PLANTAS MANTIDAS EM ESCURO E NÃO INOCULADAS (CONTROLE/ESCURO). MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE SCOTT-KNOTT, A 5% DE PROBABILIDADE.



FONTE: O AUTOR (2017).

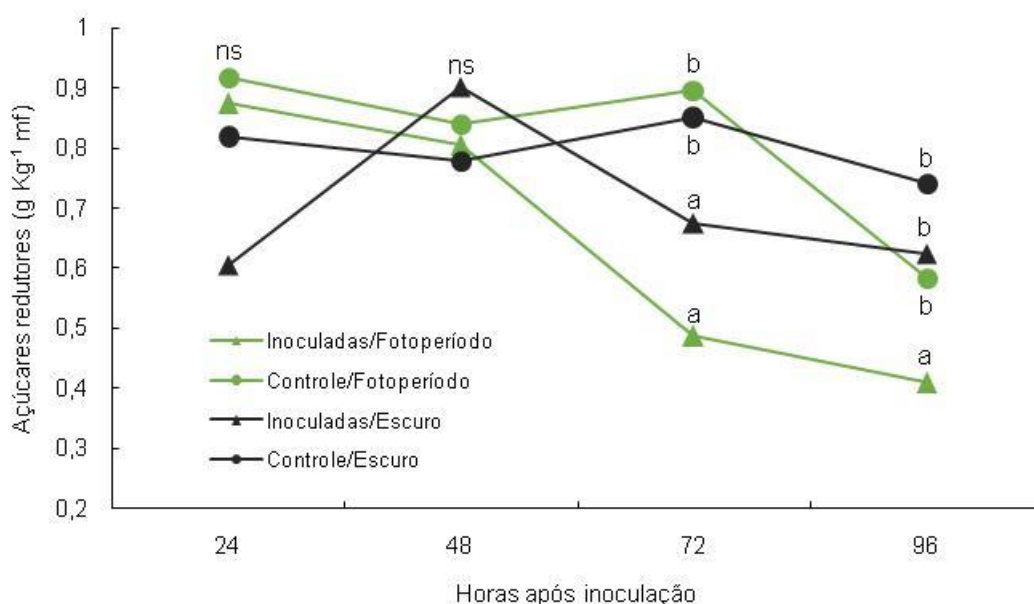
Assim como no consumo de água, houve maior redução na clorofila das plantas inoculadas/fotoperíodo, quando comparadas as plantas inoculadas/escuro e plantas controle. Isso explica, o surgimento antecipado de sintomas em plantas inoculadas/fotoperíodo (FIGURA 7). A redução do consumo de água e do índice de clorofila são respostas fisiológicas da planta ao ataque do patógeno.

A produção de açúcares nas plantas depende, direta ou indiretamente, da fotossíntese. Na fase fotoquímica, a energia solar é usada para a síntese de compostos ricos em energia (ATP e NADPH). Embora a energia armazenada nesses compostos seja quimicamente estável, as plantas não os acumulam em quantidades apreciáveis. O ATP e o NADPH são rapidamente usados nas reações bioquímicas de síntese de açúcares, a partir do CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O, que ocorrem no cloroplasto (SMITH; STITT, 2007). Desta forma, sugerindo que plantas mantidas em escuro tendem a apresentar menores concentrações de açúcares no tecido vegetal e, por consequência, afetando parâmetros ecofisiológicos como absorção de água e índice de clorofila.

Vários autores no estudo da interação patógeno-hospedeiro, confirmam que espécies do gênero *Phytophthora* afetam negativamente vários parâmetros ecofisiológicos, dentre eles a redução da absorção de água e índice de clorofila na planta (CAHILL; GRANT; WESTE, 1985; FLEISCHMANN et al., 2002; MAUREL et al., 2004; FLEISCHMANN et al., 2005; PORTZ, 2009; PORTZ et al., 2011).

A maior incidência de sintomas em plantas mantidas em fotoperíodo e inoculadas com *P. sojae*, possivelmente, se deve ao fato do teor de açúcares redutores nas raízes destas, no momento da inoculação, serem superiores em relação as plantas mantidas em escuro e inoculadas (FIGURA 10).

**FIGURA 10.** CONCENTRAÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES EM RAÍZES DE PLANTAS DE SOJA MANTIDAS EM FOTOPERÍODO DE 12 HORAS E INOCULADAS COM *Phytophthora sojae* (INOCULADAS/FOTOPERÍODO), MANTIDAS EM FOTOPERÍODO DE 12 HORAS E NÃO INOCULADAS (CONTROLE/FOTOPERÍODO) E PLANTAS MANTIDAS EM ESCURO E INOCULADAS COM *Phytophthora sojae* (INOCULADAS/ESCURO), PLANTAS MANTIDAS EM ESCURO E NÃO INOCULADAS (CONTROLE/ESCURO). MÉDIAS SEGUIDAS PELA MESMA LETRA NÃO DIFEREM ENTRE SI PELO TESTE SCOTT-KNOTT, A 5% DE PROBABILIDADE. NS (NÃO SIGNIFICATIVO).



FONTE: O AUTOR (2017).

Em condições de maior disponibilidade de açúcares na raiz *P. sojae* apresenta maior crescimento no tecido vegetal, lesionando células e tecidos, o qual é constatado pelo efeito negativo nos parâmetros ecofisiológicos avaliados.

Angay et al. (2014), avaliaram o efeito de carboidratos não-estruturais na suscetibilidade de *Quercus robur* à *Phytophthora quercina*, segundo os autores a

disponibilidade de açúcares em raízes de carvalho é um parâmetro para a suscetibilidade e não para resistência à *P. quercina*. Dessa forma, altas concentrações de açúcares nas raízes favoreceram o crescimento do patógeno. Esse efeito também foi observado no patossistema *P. citricola* – *Fagus sylvatica* (PORTZ et al., 2011).

Em contrapartida, no patossistema *Fusarium oxysporum* – *Lupinus luteus*, altos teores de carboidratos solúveis reduziram o crescimento do fungo. Juntamente com o aumento dos níveis de açúcares, houve também um incremento na síntese de metabólitos secundários, como lignina e isoflavonóides (MORKUNAS et al., 2005; 2007). Da mesma forma, Cohen et al. (1996) determinaram que em plantas de melão infectadas por *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*, a redução na intensidade luminosa aumentou o número de plantas murchas e reduziu o teor de glicose, frutose e sacarose, indicando assim, que esse patossistema é favorecido por baixo teor de açúcares na planta. Desse modo, o comportamento distinto com relação ao crescimento do patógeno e a disponibilidade de açúcares é, em muitos casos, intrínseco ao patossistema em estudo.

O tipo de parasitismo está diretamente relacionado com a disponibilidade de açúcar na planta e com o tipo de açúcar predominante. Geralmente, nas interações biotróficas verifica-se uma relação positiva entre a severidade da doença e os altos teores de açúcares na planta. Já nas interações necrotróficas, essa relação é negativa, isto é, a maior severidade da doença ocorre em condições de baixos teores de açúcares na planta. Entretanto, nas interações hemibiotróficas, prevalece, no início da infecção, a condição de alto teor de açúcar e, depois a condição de baixo teor de açúcar (VAN DER PLANK, 1984; SILVA et al., 2008). Corroborando com os resultados encontrados no presente estudo.

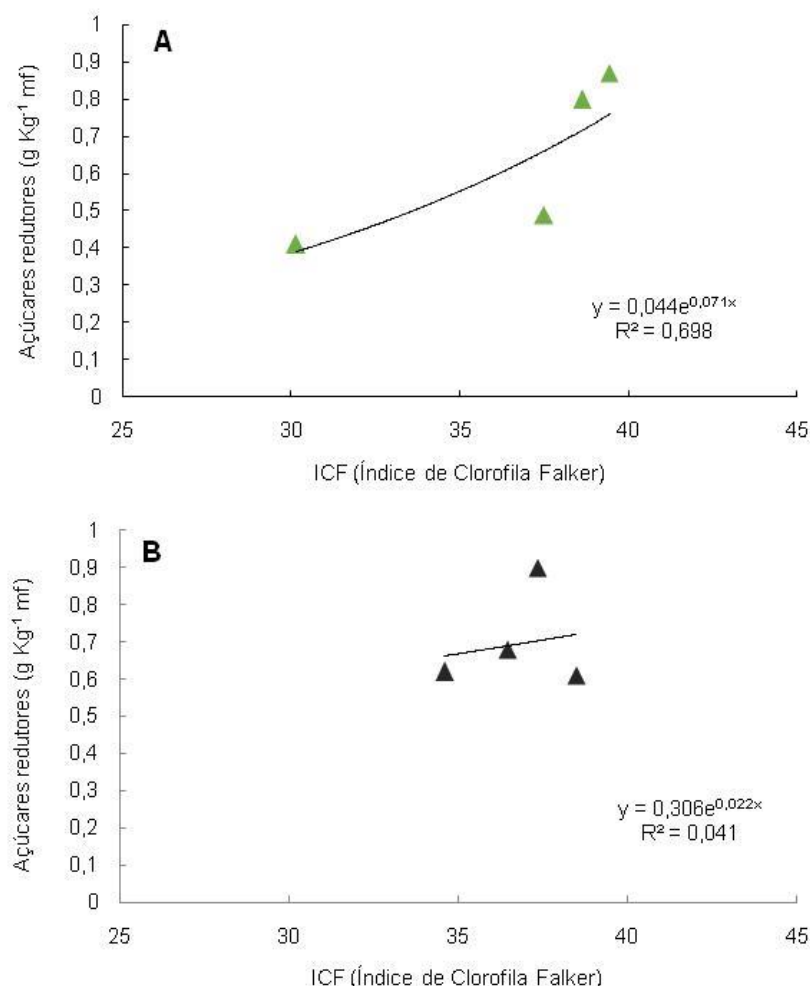
Em ensaio *in vitro* realizado por Portz (2009), foi possível evidenciar o crescimento diferenciado de colônias e hifas de *P. citricola* com relação a quantidades de glicose disponíveis em meio de cultura. Foi constatado que em meio de cultivo com menor concentração de glicose (1 g L<sup>-1</sup>) colônias atingiram o máximo de crescimento em menos tempo, bem como, um número menor de bifurcações por hifa quando comparado ao crescimento do mesmo patógeno em meio com maior concentração de glicose (3 g L<sup>-1</sup>). O mesmo foi comprovado em modelo matemático proposto por Henkel et al. (2012). E tal comportamento no crescimento de espécies de *Phytophthora* é esperado, consequentemente, *in vivo*.

De acordo com a progressão da doença observou-se um decréscimo no teor de açúcares redutores em raízes de soja inoculadas com *P. sojae*, porém nas plantas mantidas em fotoperíodo de 12 h, a redução foi maior. Segundo Berger et al. (2004), a infecção das plantas por patógenos provoca mudanças no metabolismo primário, que podem levar ao incremento ou ao decréscimo na síntese de açúcares. Entretanto, mudanças nos teores de açúcares em resposta a infecção por patógenos depende do tipo de parasitismo.

Segundo Portz et al. (2011), no patossistema *P. citricola* – *Fagus sylvatica*, quantidades maiores do patógeno estão relacionados a redução do teor de açúcares, como sacarose, glicose e frutose, em raízes inoculadas. O mesmo foi constatado por Jobic et al. (2007), trabalhando com o patossistema *Sclerotinia sclerotiorum* – *Helianthus annuus*, bem como Berger et al. (2004), no patossistema *Botrytis cinerea* – *Solanum lycopersicum*, na qual houve uma redução no teor de açúcares da planta, durante a colonização pelos patógenos.

Considerando os parâmetros ecofisiológicos, assim como a concentração de açúcares em plantas inoculadas sem privação de fotoperíodo e plantas conduzidas por um período no escuro, é possível estabelecer uma correlação entre a concentração desses açúcares com o índice de clorofila Falker (FIGURA 11).

**FIGURA 11.** CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES EM RAÍZES DE PLANTAS DE SOJA E ÍNDICE DE CLOROFILA FALKER (ICF). (A) PLANTAS MANTIDAS EM FOTOPERÍODO DE 12 HORAS E INOCULADAS COM *Phytophthora sojae*; (B) PLANTAS MANTIDAS NO ESCURO E INOCULADAS COM *Phytophthora sojae*.



FONTE: O AUTOR (2017).

Os dados da Figura 11A sugerem que concentrações menores de açúcares presentes na raiz, tendem a reduzir o índice de clorofila Falker. Considerando o patossistema *P. sojae* – *Glycine max*, é provável que a redução dos níveis de açúcares em raízes infectadas esteja relacionado ao crescimento do patógeno. Nessas plantas, supostamente valores iniciais de açúcares na raiz eram maiores, favorecendo o crescimento de *P. sojae*, culminando nos efeitos negativos da doença.

Ao contrário, em raízes submetidas a um período de escuro que antecedeu a inoculação, os níveis de açúcares são menores e, por consequência, supõem-se um menor desenvolvimento do patógeno na raiz, levando assim a um menor efeito



sobre o índice de clorofila Falker (FIGURA 11B), bem como, ao surgimento posterior dos sintomas da doença (FIGURA 7).

Considerando que *P. sojae* é um patógeno hemibiotrófico, a maior disponibilidade de açúcares em um dos tratamentos (inoculada/fotoperíodo), no momento da inoculação, favoreceu o desenvolvimento da doença. Esse mesmo comportamento é descrito por Van Der Plank, 1984 e Silva et al., 2008, os quais afirmam que em interações hemibiotróficas, prevalece, no início da infecção, a condição de alto teor de açúcar e, depois a condição de baixo teor de açúcar. Corroborando assim, com as constatações do presente trabalho.

## 5 CONCLUSÃO

Altas concentrações de açúcares favorecem o surgimento antecipado de sintomas causados por *P. sojae*, enquanto baixas concentrações prorrogam esse efeito.

Plantas inoculadas com *P. sojae* apresentaram redução dos parâmetros ecofisiológicos avaliados.

A partir dos resultados encontrados no presente estudo, é possível concluir que o teor de açúcares redutores na raiz influenciam o crescimento do patógeno, contribuindo para o entendimento da interação patógeno-hospedeiro.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMORIM, L.; PASCHOLATI, S. F. Ciclo de relações patógeno-hospedeiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M; BERGAMIM FILHO, A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. p. 59-100.
- ANGAY, O.; FLEISCHMANN, F.; RECHT, S.; HERRMANN, S.; MATYSSEK, R. OßWALD, W.; BUSCOT, F.; GRAMS, T. E. E. Sweets for the foe – effects of nonstructural carbohydrates on the susceptibility of *Quercus robur* against *Phytophthora quercina*. **New Phytologist**, v. 203, p. 1282-1290. 2014.
- BERGER, S.; PAPADOPOULOS, M.; SCHREIBER, U.; KAISER, W.; ROITSCH, T. Complex regulation of gene expression, photosynthesis and sugar levels by pathogen infection in tomato. **Physiologia Plantarum**. v. 122. p. 419-428. 2004.
- BEZERRA, A. R. G.; SEDIYAMA, T.; BORÉM, A.; SOARES, M. M. Importância econômica. In: SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BORÉM, A. **Soja: do plantio a colheita**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2015. p. 9-26.
- CASARES, A.; NZALEZ, A. G.; SANCHEZ TAMÉS, R. Ultrastructure of calli from resistant and susceptible chestnut inoculated with *Phytophthora cambivora*. **Phytopathology**. v. 142. p. 19-26. 1994.
- CAHILL, D. M.; GRANT, B. R.; WESTE, G. M. How does *Phytophthora cinnamomi* kill a susceptible eucalypt? Aust. **Plant Pathol.** v. 14, p. 59-60. 1985.
- COHEN, R.; BLAIER, B.; SCHAFFER, A. A.; KATAN, J. Effect of acetochlor treatment on *Fusarium* wilt and sugar content in melon seedlings. **Euro. J. of Plant Pathol.** v. 102. p. 45-50. 1996.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos, sétimo levantamento – safra 2016/2017**. Brasília: Conab, 2017. 162 p.
- COSTAMILAN, L.M.; BERTAGNOLLI, P. F.; MORAES, R. M. A. de. Podridão radicular de fitóftora em soja. **Embrapa Trigo**, Documentos 79, 2007.
- EMBRAPA. Tecnologia de produção de soja - Região Central do Brasil 2014. 16. ed. Londrina: **Embrapa Soja**, 2013. v. 1, 265 p.
- ENKERLI, K.; HAHN, M. G.; MIMS, C. W. Ultrastructure of compatible and incompatible interactions of soybean roots infected with the plant pathogenic oomycete *Phytophthora sojae*. **Canadian Journal of Botany**, v. 75, p. 1493-1508. 1997.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FLEISCHMANN, F.; KOEHL, J.; PORTZ, R.; BELTRAME, A. B.; OßWALD, W. Physiological changes of *Fagus sylvatica* seedlings infected with *Phytophthora citricola* and the contribution of its elicitor "Citricolin" to pathogenesis. **Plant Biology**, v. 7. 650-658. 2005.

FLEISCHMANN, F.; SCHNEIDER, D.; MATYSSEK, R.; OßWALD, W. F. Investigations on net CO<sub>2</sub> assimilation, transpiration and root growth of *Fagus sylvatica* infested with four different *Phytophthora* species. **Plant Biol.** v. 4, p. 144-152. 2002.

GODOY, C. V.; ALMEIDA, A. M. R.; COSTAMILAN, L. M.; MEYER, M. C.; DIAS, W. P.; SEIXAS, C. D. S.; SOARES, R. M.; HENNING, A. A.; YORINORI, J. T.; FERREIRA, L. P.; SILVA, J. F. V. Doenças da soja. In: AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2016. p. 657-676.

GREKSAK, M.; ASAHI, T.; URITANI, I. Increase in mitochondrial activity in diseased sweet potato root tissue. **Plant & Cell Physiol.** v. 13. p. 1117-1121.

HENNING, A. A.; ALMEIDA, A. M. R.; GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; MEYER, M. C.; SOARES, R. M.; DIAS, W. P. Manual de identificação de doenças de soja. **Embrapa Soja**, Documentos 256, 2010.

HENKEL, A.; MULLER, J.; POTZSCHE, C. Modeling the spread of *Phytophthora*. **J. Math. Biol.** v.65. p. 1359-1385. 2012.

HORSFALL, J. G.; DIMOND, A. E. Interaction of tissue sugar, growth substance, and diseases susceptibility. **J. of Phytopathol.** v. 64. p. 415-421.

JOBIC, C.; BOISSON, A. M.; GOUT, E.; RASCLE, C.; FÉVRE, M.; COTTON, P.; BLIGNY, R. Metabolic processes and carbon nutrient exchanges between host and pathogen sustain the disease development during sunflower infection by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Planta**. v. 226. p. 251-265. 2007.

JONES, D. R.; GRAHAM, W. G.; WARD, E. W. B. Ultrastructural changes in pepper cells in an incompatible interaction with *Phytophthora infestans*. **Phytopathology**. v. 65. p. 1274-1282. 1975.

JUPE, J.; STAM, R.; HOWDEN, A. J. M.; MORRIS, J. A.; ZHANG, R.; HEDLEY, P. E.; HUITEMA, E. *Phytophthora capsici*-tomato interaction features dramatic shifts in gene expression associated with a hemi-biotrophic lifestyle. **Genome Biology**. v. 14. p. 1-18. 2013.

KEELING, B. L. A seedling test for resistance to soybean stem canker caused by *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 72, n. 7, p. 807-809, 1982.

LUTTRELL, E. S. America Parasitism of Fungi on Vascular Plants. **Mycologia**. v. 66. n. 1. p. 1-15. 1974.

LYTOVCHENKO A., SONNEWALD U., FERNIE A. R. The complex network of non-cellulosic carbohydrate metabolism. **Plant Biol.** v.10. p. 227-235. 2007.

MAUREL, M.; ROBIN, C.; SIMONNEAU, T.; LOUSTAU, D.; DREYER, E.; DESPREZ-LOUSTAU, M. L. Stomatal conductance and root-to-shoot signalling in chestnut saplings exposed to *Phytophthora cinnamomi* or partial soil drying. **Funct. Plant Biol.** v. 31, p. 41-51. 2004.

MASSOLA Jr, N. S.; KRUGNER, T. L. Fungos fitopatogênicos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M; BERGAMIM FILHO, A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. p. 149-206.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**. v.31, n.3, p. 426-428, 1959.

MORKUNAS, I.; KOZLOWSKA, M.; RATAJCZAK, L.; MARCZAK, L. Role of sucrose in the development of *Fusarium* wilt in lupine embryo axes. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 70, p. 25-37. 2007.

MORKUNAS, I.; MARCZAK, L.; STACHOWIAK, J.; STOBIECKI, M. Sucrose-induced lupine defense against *Fusarium oxysporum* Sucrose-stimulated accumulation of isoflavonoids as a defense response of lupine to *Fusarium oxysporum*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 43, p. 363-373. 2005.

PARBERY, D. G. Trophism and the ecology of fungi associated with plants. **Biol. Rev.** v. 71. p. 473-527. 1996.

PORTZ, R. L. Histologische, physiologische und molekularbiologische Untersuchungen im Wirt-Pathogen-System Buche (*Fagus sylvatica* L.) - *Phytophthora citricola* Saw. und Bedeutung extrazellulärer Proteine des Pathogens für die Interaktion. Tese (Doutorado em Ciências Naturais) – Departamento de Patologia Florestal, Universidade Técnica de Munique, Munique, 2009.

PORTZ, R. L.; FLEISCHMANN, F.; KOEHL, J.; FROMM, J.; ERNST, D.; PASCHOLATI, S. F.; OßWALD, W. F. Histological, physiological and molecular investigations of *Fagus sylvatica* seedlings infected with *Phytophthora citricola*. **Forest Pathology**. v. 41. p. 202-211. 2011.

SARRIA, G. A.; MARTINEZ, G.; VARON, F.; DRENTH, A.; GUEST, D. I. Histopathological studies of the process of *Phytophthora palmivora* infection in oil palm. **Eur. J. Plant. Pathol.** v. 145. p. 39-51. 2016.

SILVA, C. F. B.; RODRIGUES, F. A.; DALLAGNOL, L. J.; DAMATTA, F. M. Açúcares e a resistência das plantas às doenças. In: LUZ, W. C. da (Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. v. 16. Passo Fundo: RAPP, 2008. p. 337-364.

SMITH, A. M.; STITT, M. Coordination of carbon supply and plant growth. **Plant Cell & Environ.** v. 30. p. 1126-1149. 2007.

STOSSEL, P.; LAZAROVITS, G.; WARD, E. W. B. Penetration and growth of compatible and incompatible races of *Phytophthora megasperma* var. *sojae* in soybean hypocotyl tissues differing in age. **Canadian Journal of Botany**, v. 58, p. 2595-2601. 1980.

SUTTON, P. N.; HENRY, M.J.; HALL, J. L. Glucose, and not sucrose, is transported from wheat to wheat powdery mildew. **Planta**. v. 208. p. 426-430. 1999.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. Foreign Agricultural Service. **World Agricultural Production – May 2017**. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf> >. Acesso em: 21 mai. 2017.

VAN DER PLANK, J. E. **Disease Resistance in Plants**. Orlando: Academic Press, 1984.

WHISSON, S. C.; BOEVINK, P. C.; WANG, S.; BIRCH, P. R. J. The cell biology of late blight disease. **Current Opinion in Microbiology**, v. 34, p. 127-135. 2016.